RNA すいすい-S

RS-0001N

～RNA 簡易抽出バッファー～

デンプン・糖の多い植物組織向け

取扱説明書

Ver. 1.4

RIZO Inc.

目次

	ページ
本製品の特長	3
内容物	3
保存条件	3
使用上の注意	3
その他必要な機器・試薬	4
試料からのRNA抽出プロトコール	5-7
トラブルシューティング	8
本製品を用いた抽出例	9
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品「*RNA すいすい-S*」は、穀類・豆類種子、芋類、果実等、デンプン・糖を多く含む植物組織からの RNA 抽出に最適な抽出バッファーです。精製カラムを使用せず操作ステップ数も少ないため、スピーディーで低コストの RNA 抽出が可能です。
抽出した RNA はリアルタイム PCR 解析、ノーザンブロット解析、poly-A RNA 精製等に使用できます*。
なお、本製品には、RNA 抽出に必要な「酸性フェノール」を簡単に調製できる試薬「*酸性フェノールすいすい*」を添付しております。より効果的な RNA 抽出にお役立てください。
*本製品にはDNaseIは含まれておりません。残存DNAの除去が必要なアプリケーションにご使用になる場合には、RNA 抽出後に DNaseI 処理を行ってください。

内容物

RNA すいすい-S　85 mL（約 210 回分）
　液色：黄色
酸性フェノールすいすい　40ml（酸性フェノール約 80ml 分）
　液色：赤紫色

保存条件

開封後は冷蔵保存（4℃）して下さい。

使用上の注意

本試薬は研究目的以外にご使用にならないでください。また、RNA 操作及び試薬に関する基本的知識のある方以外は取り扱わないでください

*記載内容や製品仕様、および価格に関しては予告なしに変更する場合がございます。

その他必要な試薬・機器

試薬

結晶フェノール*
クロロホルム
イソプロパノール
70% エタノール**
滅菌蒸留水（DEPC 処理が望ましい）

* 「酸性フェノール」作成用です（「酸性フェノール」はお手持ちの水飽和フェノールで代用可能ですが、添付の「*酸性フェノールすいすい*」を用いて調製されることをお勧めします）。
** エタノール（分子生物学用）：滅菌蒸留水を７：３の容積比で混合したものをご利用ください。

機器

微量高速遠心機
ミルサーなどの粉砕機器

その他

1.5 ml チューブ
マイクロピペット
ピペットチップ

酸性フェノールの調製（手袋を着用して行ってください）

１．「*酸性フェノールすいすい*」を、清潔なビーカーなどに移し（捨てないでください）、ボトルを空にします。

２．空にしたボトルに結晶フェノールを８分目ほど入れ、65℃の湯浴で融解します（60ｍｌ程度の液体フェノールが得られます）。

３．１．で移した「*酸性フェノールすいすい*」を２．のボトルに戻し、しっかり蓋をしめてシェイクします。

４．そのまま二層に分離するまで放置します。下層（赤紫色の層）が酸性フェノールになります（80ml 程度の酸性フェノールが得られます）。

５．調製後は４℃で保存してください。

分析試料からの RNA 抽出プロトコール

1. *RNA すいすい-S*　400μl を 1.5ml チューブに入れ、氷上に置きます[注①]。

2. 分析試料を乳鉢、ミルサー等[注②]で粉砕し、粉状にした試料 50～100 mg [注③]を１．のチューブに入れ、すみやかに本品となじませます。

3. ボルテックス、ペッスル等でさらに粉砕・混合します。

4. 酸性フェノール 200μl を加えて混合します。

5. クロロホルム 150μl を加えて混合し、氷上で 15 分放置します。

6. 15,000 rpm、10 分間遠心分離を行います。

7. 1.5ｍｌチューブにイソプロパノール300μｌを入れ、氷上に準備しておきます。このチューブに上清～300 μl を移し、よく混和した

後、−20℃で30分置きます。

8. 15,000 rpm、10分間遠心分離を行います。

9. 上清を捨て[注④]、70% エタノールを400μl入れ、沈澱の洗浄を行います。

10. 15,000 rpm、10分間遠心分離を行います。

11. 上清を捨て、沈澱を乾燥（風乾）[注⑤]します。

12. 20～50μl（標準30μl）のDEPC処理水に溶解し[注⑥]、RNA試料とします。

***注①～⑥については次ページの「注解および留意点」をご参照ください。**

注解

注①RNase 阻害剤として、*RNA すいすい-S* 400μl に対し4μl のメルカプトエタノールを添加することができます。

注②試料をアルミホイルでくるみ、ラジオペンチ等でつぶして粉状にしたものでも可能です。粉状にすることが困難な試料の場合は、本試薬を添加後、ピペットチップの先など利用して、試料を丁寧に潰してください。凍結サンプルの場合には、液体窒素等で凍結状態を保ったまま粉砕し、十分に冷やしたスパーテルですくいとって加えてください。サンプルの融解と同時に本品となじませることが重要です。

注③試料を多く入れ過ぎますと RNA の収量の低下や夾雑物残存の原因となります。100mg の目安はイネ種子の場合 5 粒程度です。

注④沈澱が流出しないようご注意ください。

注⑤乾燥させすぎると DEPC 処理水への溶解が困難になります。

注⑥試料の種類や状態、また使用目的により最適量が異なりますので、適宜調整して下さい。

留意点

夾雑物などの影響により得られた RNA の純度が不十分であると考えられる場合は、ステップ 4～6 の操作をさらに繰り返すことにより改善される場合があります。

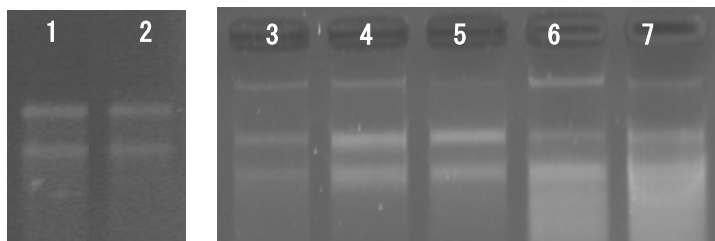
本プロトコールは微量サンプルからの RNA 簡易抽出用に考案されていますが、多量のサンプル向けにスケールアップすることも可能です。

トラブルシューティング

問題	考えられる原因	対策
RNA の収量が低い。	試料の粉砕が不十分である。	できるだけ試料を細かく粉砕して下さい。粉状にすることが困難な試料の場合は、本試薬を添加後、ピペットチップの先など利用して、試料を丁寧に潰してください。
	試料が本品に触れる前に RNA が分解している。	液体窒素等を用いて凍結状態で粉砕し、融解する前に本品と混合することをお試しください。
DNA の混入が多い	試料の量が多すぎる。	試料の量を１００mg 程度に減らして抽出してください。
	酸性フェノール抽出が不十分である。	酸性フェノール抽出の回数を増やすことによりある程度改善されます。（DNA を完全に除く必要がある場合には、DNase 処理を行ってください。）

本製品を用いた抽出例

穀類、イモ類、その他の材料を用いた抽出例

本製品を使用して約 100mg の組織から RNA 抽出を行い、
得られた RNA の 1/6 量を電気泳動しました。

1 イネ（玄米） 2 イネ（精米） 3 オオムギ種子 4 ショウガ（塊根）
5 黒米（玄米） 6 ジャガイモ（塊茎） 7 サツマイモ（塊根）

☆ このほか、キビ、アワ、ヒエ、ダイズ、アズキ、レンズマメ（以上完熟種子）、カボチャ、トマト、メロン、バナナ（以上果肉）、トウモロコシ（未熟種子）、ブナシメジ（菌糸体）、から RNA が抽出されることを確認しております。

抽出した RNA には DNA も含まれています。リアルタイム PCR 解析、ノーザンブロット解析等の実験目的に合わせ、「DNase I 処理」等を行い、残存 DNA を除去してください。